مقاله اصیل پژوهشی

تأثیر توأم پیوند غیر اتولوگ سلول‌های بنیادی استخراج‌شده از چربی و فاکتور رشد عصبی بر ترمیم عصب سیاتیک له‌شده در موش صحرایی

آزاده تاجیک [۱]، مهناز آذرنیا[۲]، غلامرضا کاکا[۳]، سید همایون صدرایی[۴]، عمید خطیبی اقدا[۵]

چکیده

زمینه و هدف: از آنجایی‌که سلول‌های بنیادی برگرفته‌شده ار بافت چربی، در دسترس و آسان می‌باشند، در در این بررسی، تأثیر پیوند سلول‌های بنیادی مشتق‌شده از چربی (ADSc) و هورمون رشد عصب (NGF)، بر شاخص عمل عصب در موش صحرایی دارای له‌شدگی عصب سیاتیک، از طریق بررسی رفتار و الکتروفیزیولوژی در روند ترمیم، ارزیابی شد.

روش تحقیق: در این تحقیق، از ۲۸ سر موش صحرایی نر بالغ استفاده شد که پس از له‌کردن عصب سیاتیک، در ۴ گروه شامل: گروه رت‌های سالم، گروه رت‌های شاهد فقط تحت آسیب عصبی، گروه رت‌های آسیب‌دیده تحت درمان با NGF و گروه رت‌های آسیب‌دیده تحت درمان با ADSc و NGF قرار گرفتند. میزان بهبودی توسط آزمون حسی شاخص فعالیت عصب سیاتیک SFI)، دامنه پتانسیل فعالیت حرکتی (AMP) و سرعت هدایت پیام عصبی (NGV) ارزیابی گردید.

یافته‌ها: میزان تأخیر بهبود حسی، ۲ هفته پس از ترمیم، در گروه NGF نسبت به گروه سالم افزایش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۱)، اما در گروه سلول‌درمانی، بهبودی کاملاً مشخصی دیده شد. میانگین SFI در پایان هفته ششم، در گروه سلول‌درمانی و NGF نسبت به گروه شاهد افزایش داشت، اما معنی‌دار نبود. میانگین NCV و AMP در گروه‌های درمانی به‌خصوص گروه سلول‌درمانی نسبت به گروه شاهد، افزایش غیر معنی‌داری داشت.

نتیجه‌گیری: پیوند ASDc به‌همراه تجویز NGF موضعی، می‌تواند یک رویکرد درمانی برای ترمیم جراحت عصبی مناسب محسوب شود و NGF نیز اثر مثبتی بر ترمیم عصب سیاتیک دارد.

واژه‌های کلیدی: سلول‌های بنیادی مشتق از چربی؛ عامل رشد عصب؛ ترمیم عصب

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۳۹۲؛ ۲۰ (۴): ۳۵۷-۳۶۵.

دریافت: ۱۳۹۲/۰۲/۱۸ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۰/۰۹

[۱] کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران.

[۲] دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران.

[۳] نویسنده مسؤول، استادیار، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...، تهران، ایران.

آدرس: تهران- اقدسیه- میدان اراج- دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...

تلفن: ۰۲۱۲۲۲۸۹۹۴۱ نمابر: ۲۶۱۲۷۲۸۶ پست الکترونیکی: Zhiwantejarat@yahoo.com

[۴] دانشیار، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، گروه آناتومی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...، تهران، ایران.

[۵] استادیار، گروه طب فیزیکی و توانبخشی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...، تهران، ایران.

مقدمه

پیامدهای آسیب‌های عصبی، رضایت‌بخش نبوده و موجب معلولیت‌های طولانی‌مدّت می‌شود. عدم کارکرد حسی و حرکتی که با درد و ناراحتی همراه است، نه‌تنها پیامدهای کاربردی دارد، بلکه از تأثیرات فیزیولوژیکی و اجتماعی مهمی نیز برخوردار است (۱).

روش‌های مختلف درمانی در ترمیم اعصاب محیطی استفاده شده است، اما هنوز ۵۰٪ این ضایعات، برای همیشه باقی مانده و معلولیت بجا می‌گذارند (۲).

سلول‌های بنیادی مزانشیمی، یک منبع سلولی جذاب برای ترمیم بافت عصبی به‌شمار می‌روند که علت آن، خودتجدیدپذیری آنها، سرعت رشد زیاد و خصوصیات مختلف چند کارکردی می‌باشد (۳)؛ همچنین مشخص شده است که کاشت سلول‌های بنیادی مزانشیم استخراج‌شده از مغز استخوان، تأثیر مفیدی بر روی ترمیم عصب محیطی دارند (۴)؛ با این وجود، جداسازی آنها، روشی دردناک و غیر رفاهی بوده و فراوانی سلول‌ها در مغز استخوان نسبتاً کم است (۵). بنابراین یافتن یک منبع سلولی دیگر بسیار ضروری است (۶). سلول‌های بنیادی استخراج شده از چربی، پروفایل‌های فنوتیپی مشابهی با سلول‌های مزانشیم مغز استخوان دارند (۷). اما مزایای منحصر به فرد آنها عبارتند از:

این سلول‌ها را می‌توان از طریق فرایند لیپوساکشن، از بافت زیرپوست به‌آسانی برداشت کرد (۸)؛ فراوانی سلول‌ها در بافت چربی بیشتر از مغز استخوان است و سریعتر تکثیر می‌شوند (۹، ۱۰)؛ فاکتور رشد عصبی (NGF)، یک عامل اختصاصی برای زنده‌ماندن نورون‌ها می‌باشد (۱۱)؛ NGF، ترمیم نورون‌های حرکتی را تسریع می‌نماید (۱۲) و سبب افزایش تعداد آکسون‌های میلین‌دار و بلوغ بیشتر لایه‌های اندوتلیال می‌گردد (۱۳).

هدف از این تحقیق، بررسی تأثیر تزریق نوروتروفین NGF و ADScها بر ترمیم عصب سیاتیک له‌شده توسط آزمون‌های رفتاری، شاخص عمل عصب سیاتیک و الکتروفیزیولوژی بود.

روش تحقیق

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر، بر روی ۲۸ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار، به وزن تقریبی ۲۰۰-۳۰۰ گرم انجام شد. رت‌ها در مرکز حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...، تحت شرایط طبیعی شامل: چرخه ۱۲ ساعت روشنایی و تاریکی، دمای ۲۳-۲۵ درجه سانتی‌گراد و آب و غذای کافی نگهداری شدند.

آماده‌سازی حیوان

بیهوشی موش‌ها توسط مخلوطی از کتامین به‌مقدار ۹۰mg/Kg و گزیلازین (زایلازین) به‌مقدار ۱۰mg/Kg، به‌صورت داخل صفاقی صورت گرفت و پس از آن، موی پای حیوان تراشیده شد و پوست خلفی خارجی ران، توسط بتادین و الکل استریل شد.

آسیب عصب سیاتیک

در پوست خلفی خارجی ران، یک برش طولی به‌اندازه ۳سانتی‌متر ایجاد شد. عضلات پشت ران کنار زده شد و عصب سیاتیک نمایان گردید. عصب، توسط پنس هوموستاتیک متوسط جراحی، در دو جهت عمود بر یکدیگر و به مدت ۱۰ ثانیه له شد.

استخراج سلول

چربی، از حفره لگنی حیوان برداشته شد و پس از خردشدن، با ۴۰λ کلاژناز و ۲ میلی‌لیتر محیط کشت αMEM مخلوط گردید و به مدت ۳۰ تا ۱۵ دقیقه به‌هم‌زده شد تا زمانی‌که یک محلول کاملاً شیری‌رنگ به‌دست آمد. محلول، از فیلتر مش ۷۰ عبور داده شد و سپس ۲بار به مدت ۴ دقیقه و با دور ۳۰۰۰، سانتریفیوژ شد. محلول رویی، دور ریخته شد و ترکیب باقیمانده، با محیط کشت مخلوط گردید و در یک پلیت، داخل انکوباتور قرار گرفت. تا ۳ روز، محیط رویی، توسط سمپلر کشیده شد و محیط کشت جدید اضافه

شد تا سلول‌ها به کف پلیت چسبیدند. بعد از دو پاساژ، سلول‌ها برای پیوند آماده شدند.

گروه‌بندی

موش‌ها به‌طور تصادفی در ۴ (n=۷) گروه قرار گرفتند:

۱- گروه سالم بدون آسیب؛

۲- گروه شاهد که عصب سیاتیک موش‌ها دچار آسیب گردید؛

۳- گروه NGF که عصب سیاتیک موش‌ها دچار آسیب شد و سپس مقدار ۹ میکرولیتر NGF در محل آسیب تزریق گردید؛

۴- گروه سلولی غیراتولوگ (Non-Atuo) که عصب سیاتیک موش‌ها دچار آسیب شد و سپس در محل آسیب، مقدار ۱۵۰۰۰۰ سلول بنیادی مزانشیمی همراه با مقدار ۹ میکرولیتر NGF تزریق گردید.

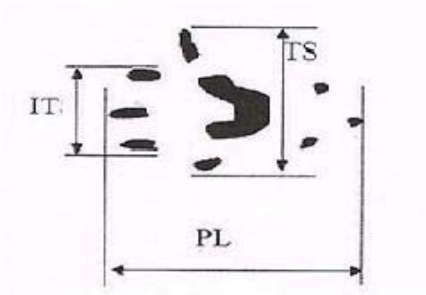
تزریق سلول و NGF

سلول‌ها توسط آنزیم تریپسین، از پلیت جدا شد و مقدار ۱۵۰۰۰۰ سلول و ۹ میکرولیتر NGF، با استفاده از سرنگ همیلتون، به محل لهشده عصب تزریق گردید. تزریق به مدت ۹ دقیقه و در ۳ ناحیه محل آسیب، یک‌میلی‌متری دیستال و پروگزیمال محل آسیب صورت گرفت.

بررسی‌های رفتاری

الف- بررسی حسی: ارزیابی حسی عصب سیاتیک

ارزیابی عملکرد حسی عصب سیاتیک، توسط آزمون رفتاری Hot Plate انجام شد که روشی برای سنجش حسّ حرارت است. این آزمون، در پایان هفته ۲، ۴ و ۶ و توسط دستگاه Heater (شرکت پارس آزما- اصفهان، ایران) که دارای تنظیم درجه حرارت بود، انجام شد. دما در ۴۸ درجه سانتی‌گراد ثابت گردید؛ موش روی صفحه قرار گرفت و مدت زمانی که طول کشید تا حیوان پای آسیب‌دیده خود را از سطح بلند کند، به‌عنوان زمان پاسخ در نظر گرفته شد. این عمل، برای هر حیوان ۳ بار، به‌طور جداگانه و به فاصله ۱۰ دقیقه انجام گرفت.



شکل ۱- نمایش کف پای رت

ب- بررسی حرکتی: ارزیابی شاخص عملکرد عصب سیاتیک

بررسی حرکتی، در پایان هفته ۲، ۴ و ۶ بعد از عمل جراحی انجام شد؛ بدین‌صورت‌که کف پای آسیب‌دیده حیوان، با جوهر رنگی شد و حیوان در یک راهرو به ابعاد ۲۰×۷×۶۰ سانتی‌متر که کف آن کاغذ سفیدی قرار داده شد بود، راه می‌رفت؛ سپس SFI، بر اساس فرمول زیر برای پای جراحی شده و پای سالم محاسبه گردید (۱۴).

$$SFI = -38.5\left(\frac{EPL-NPL}{NPL}\right)+109.5\left(\frac{ETS-NTS}{NTS}\right)+13.3\left(\frac{EIT-NIT}{NIT}\right)-8.8$$

در معادله فوق، «PL» طول کف پا، «TS» فاصله بین سر انگشتان ۱ و ۵، «IT» فاصله بین سرانگشتان ۲ و ۴، «E-Experimental» سمت آزمایش، «N-normal» سمت سالم (تمام اندازه‌ها برحسب میلی‌متر) می‌باشند.

اگر مقدار SFI، ۱۰- تا ۱۰+ باشد، علامت طبیعی‌بودن حرکت پا می‌باشد و اعداد ۱۰۰- الی ۱۰-، بهبودی حرکتی را نشان می‌دهد و مقدار ۱۰۰- یا کمتر، نشان می‌دهد که فعالیت حرکتی به‌طور کامل از بین رفته است (۱۵). این روش، پرکاربردترین روش برای ارزیابی کارکردی ترمیم عصب در موش است (۱۶).

ج- بررسی الکتروفیزیولوژی

این بررسی، توسط دستگاه ثبت الکترومیوگرافی برای ثبت دامنه پتانسیل فعالیت حرکتی (AMP) و سرعت هدایت پیام عصبی (NCV) انجام شد. موش‌ها در پایان هفته ششم،

بیهوش شدند و الکترود تحریک در زیر عصب سیاتیک آنها قرار گرفت که دو الکترود کفه‌ای، یکی روی قوزک خارجی تیبیا و دیگری روی عضله گاستروکنیمیوس قرار گرفت.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

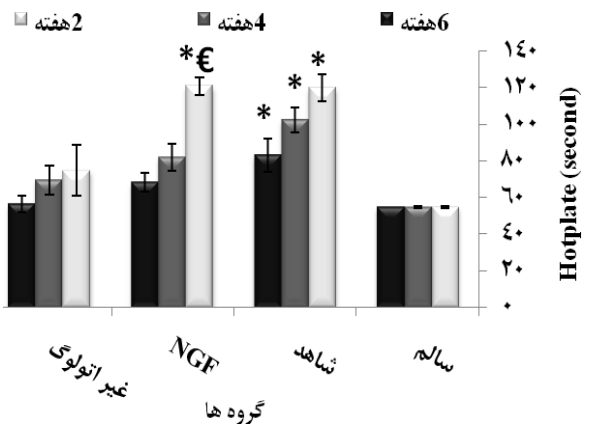
تجزیه و تحلیل داده‌ها، توسط نرم‌افزار SPSS (ویرایش ۱۸) انجام شد و نتایج به‌دست‌آمده، به‌صورت میانگین و خطای انحراف از میانگین (Mean±SEM) نمایش داده شد. در بررسی داده‌ها، از آزمون کروسکال–والیس برای مقایسه میانگین بین گروه‌ها استفاده گردید. سطح معنی‌داری $P<۰/۰۵$ درنظر گرفته شد.

یافته‌ها

بررسی حسی

میانگین تأخیر پاسخ حسی در پایان هفته‌های ۲، ۴ و ۶ در گروه شاهد (P=۰/۰۳۴، P=۰/۰۳۲، P=۰/۰۲۸)، در پایان هفته ۲ و ۴ در گروه‌های NGF (P=۰/۰۲۵ و P=۰/۰۲۴) و سلول‌درمانی غیر اتولوگ (P=۰/۰۵ و P=۰/۰۴۶)، به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه سالم بود. میزان بهبود درک حس در پایان هفته‌های ۴ و ۶ در گروه سلول‌درمانی غیر اتولوگ (P=۰/۰۳۴)، افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشت.

با توجه به نمودار یک، با گذشت زمان ۲ هفته، میزان درک حسّ حرارت در گروه سلول‌درمانی قابل تشخیص است که اختلاف معنی‌داری با گروه NGF دارد و با گذشت زمان بیشتر در ۴ و ۶ هفته بعد از ترمیم، در همه گروه‌ها نسبت به گروه سالم، بهبودی مشاهده می‌شود که این اختلاف دیگر معنی‌دار نیست. این بهبودی در گروه سلول‌درمانی غیر اتولوگ بیشتر مشهود بوده و در پایان هفته ۶ خیلی نزدیک به نرمال می‌باشد.



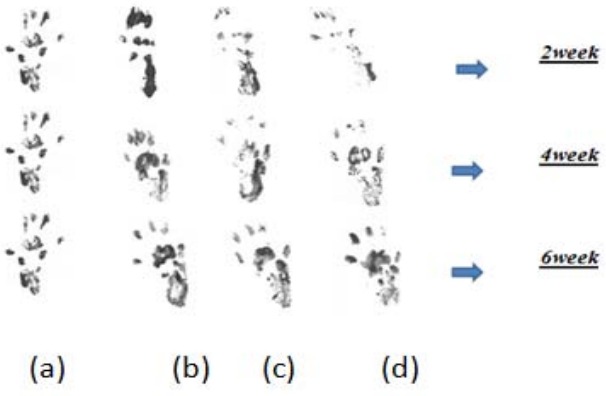
نمودار ۱- مقایسه زمان تأخیر در پاسخ عقب‌کشیدن پای خلفی با استفاده از Hot plate در گروه‌های مختلف در پایان هفته‌های ۲، ٤ و ٦ پس از ترمیم. *: اختلاف معنی دار با گروه نرمال یا طبیعی. €: اختلاف معنی‌دار با گروه پیوند غیراتولوگ.

آزمون حرکتی یا SFI

با له‌کردن عصب، حیوانات قادر به راه‌رفتن بر روی کف پای آسیب‌دیده نبودند که با گذشت زمان، کم‌کم بهبودی حاصل شد. با توجه به تصویر ۲، در پایان هفته ششم نسبت به هفته‌های ۲ و ۴، روند بهبودی بهتر است و این میزان در گروه سلول‌درمانی غیر اتولوگ نسبت به سایر گروه‌ها سریع‌تر می‌باشد. از لحاظ آماری، اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی مشاهده نشد (جدول ۱). همان‌طور که جدول نشان می‌دهد، روند بهبودی در گروه سلول‌درمانی نسبت به سایر گروه‌ها بیشتر است.

جدول ۱- ارزیابی شاخص عملکرد حرکتی عصب سیاتیک در پایان هفته‌های ۲، ٤ و ٦ بعد از ترمیم در گروه‌های مورد آزمایش (آزمون حرکتی یا SFI)

زمان / گروه‌ها	هفته دوم	هفته چهارم	هفته ششم
شاهد	-۷۴/۹±۲/۲۳	-۲۵/۰±۷/۶۲	-۹/۵±۶/۸۷
NGF	-۶۰/۴±۶/۰۱	-۱۷/۳±۹/۹۷	-۶/۷±۵/۹۷
سلول‌درمانی	-۵۷/۱±۵/۲۵	-۳۳/۵±۲/۱۷	-۹/۵±۱/۹۲



تصویر ۲- تصویر پاهای آسیب‌دیده موش‌های گروه‌های مختلف مورد آزمایش، هنگام راه‌رفتن در پایان هفته‌های ۲، ٤ و ٦ پس از ترمیم، برای ارزیابی شاخص عملکرد حرکتی عصب سیاتیک یا SFI. a) گروه سالم، b) گروه شاهد، c) گروه NGF و d) گروه سلولی غیر اتولوگ.

همانطور که تصویر نشان می‌دهد، در پایان هفته ۶ نحوه قرارگرفتن پنجه پا در گروه‌های سلول‌درمانی نسبت به گروه سالم بهبود یافته است.

الکتروفیزیولوژی

از تمام گروه‌ها در پایان هفته ۶ آزمون الکتروفیزیولوژی به‌عمل آمد که میانگین NCV در عصب سیاتیک سالم، ۵۴/۷±۲/۵۶ متر بر ثانیه و میانگین AMP ۳۳/۳±۰/۵۸ میلی‌ولت بود. میانگین NCV در گروه سالم نسبت به گروه شاهد، از افزایش معنی‌داری برخوردار بود (P=۰/۰۰۶)؛ درحالی‌که این میزان نسبت به گروه‌های NGF (P=۰/۰۹) و سلول‌درمانی غیر اتولوگ (P=۰/۱۲)، اختلاف معنی‌داری نداشت. میانگین AMP در گروه شاهد نسبت به گروه سالم، کاهش معنی‌داری را نشان داد (P=۰/۰۱۴) اما این مقدار در گروه‌های NGF (P=۰/۰۸۲) و سلول‌درمانی غیراتولوگ (P=۰/۱۰۶)، هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری نداشت. در پایان شش‌هفته، میزان NCV و AMP در گروه‌های درمانی به‌خصوص گروه سلول‌درمانی غیراتولوگ، نسبت به گروه شاهد بهبودی قابل ملاحظه‌ای داشت اما این میزان معنی‌دار نبود.

همان‌طور که جدول ۲ نشان می‌دهد، بهبودی قابل ملاحظه‌ای در گروه‌های درمانی نسبت به گروه شاهد مشاهده می‌شود اما این میزان معنی‌دار نبود.

جدول ۲- مقایسه شاخص‌های دامنه پتانسیل فعالیت حرکتی (AMP) و سرعت هدایت عصب حرکتی (NCV) در گروه‌های تحت مطالعه.

متغیرها / گروه‌ها	AMP (mv)	NCV (m/s)
سالم	۳۳/۳±۰/۵۸	۵۴/۷±۲/۵۶
شاهد	۱۷/۲±۲/۶*	۲۷/۸±۴/۲۲*
NGF	۲۱/۷±۴/۲۵	۳۳/۶±۶/۴۹
None Autologus	۲۶/۰±۲/۵	۳۵/۴±۲/۹۴

* نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار با گروه سالم (P=۰/۰۰۱).

بحث

پیوند سلولی، به‌عنوان یک رویکرد درمانی جدید برای نقایص عصب محیطی شناخته می‌شود. سلول‌های پیوندی ایده‌آل باید به‌آسانی قابل دسترس بوده؛ در کشت تکثیر شده و با تحمل ایمونولوژیکی، در بافت میزبان ادغام شوند (۱۷). سلول‌های بنیادی استخراج‌شده از چربی را می‌توان با روش لیپوساکشن، از چربی زیر پوست به‌آسانی جدا نمود؛ به‌علاوه این سلول‌ها را می‌توان به مدت بیشتری در کشت توسعه داد و سریعاً تکثیر نمود (۱۸). پیوند سلولی، موجب رشد و تحریک بازسازی رگ‌های خونی و جوانه‌های عصبی می‌شود (۱۹). این پیوند، باعث بهبود عملکرد نورون‌های حسی و حرکتی می‌شود که این تأثیرات، به‌دلیل توانایی تولید فاکتورهای رشد مانند NGF می‌باشد (۲۰).

NGF، فاکتور اختصاصی برای زنده‌ماندن نورون‌ها می‌باشد (۱۱). NGF، سبب افزایش ترمیم اعصاب محیطی و رگ‌زایی می‌شود (۱۳). در مطالعه حاضر، مشاهده شد که کاشت ADScها، می‌تواند ترمیم نقایص عصبی را ارتقا بخشد. یکی از مزایای این پیوند، بهبود راه‌رفتن است که تحلیل اثر پا، آن را نشان می‌دهد. شاخص کارکرد عصب

سیاتیک، به‌منظور بررسی میزان بهبودی عملی عصب سیاتیک، از سوی de Medinaceli و همکاران مطرح شد و بعدها توسط Bain و همکاران به‌کار گرفته شد (۱۶، ۲۱).

در مطالعه حاضر، مقدار SFI در گروه شاهد، ۲ هفته پس از جراحی ۲/۲۳±۷۴/۹-، ۴ هفته پس از جراحی ۷/۶۲±۲۵/۰- و ۶ هفته پس از جراحی ۶/۸۷±۹/۵- شد و در گروه‌های درمان‌شده با سلول و NGF، مقدار SFI در پایان هفته دوم پس از ضایعه به‌ترتیب: ۵/۲۵±۵۷/۱- و ۶/۰۱±۶۰/۴- و در پایان هفته ششم ۱/۹۲±۹/۵- و ۵/۹۷±۶/۷- بود که نشان‌دهنده بهبودی و تسریع ترمیم ضایعه گروه‌های درمانی نسبت به گروه شاهد می‌باشد. همان‌طور که ملاحظه شد، ۶ هفته پس از آسیب، شاخص عملکردی از اندام آسیب‌دیده تحت درمان با سلول نسبت به گروه کنترل و NGF بیشتر بود.

مطالعات آزمون تأثیرات ADScها که به فنوتیپ سلول‌های شوان متمایز شد، در سال ۲۰۱۰ توسط Di summa و همکاران گزارش شده است (۲۲). Shi و همکاران، از ADScها نه‌تنها در آسیب عصب محیطی، بلکه در آسیب‌های سیستم عصبی مرکزی نیز استفاده کردند (۲۳).

Ray و همکاران در سال ۲۰۰۹، از ADScها برای درمان آسیب‌های نخاعی حاد و بهبود در عملکرد عصبی استفاده کردند. آنها همچنین از ADScها برای تمایز به آستروسیت‌ها، الیگودندروسیت‌ها و سلول‌های عصبی استفاده کردند (۲۴). اما در این مطالعه اظهار داشتند که بهبود عملکرد، با وجود بهبود قابل‌توجه بافتی در محل آسیب، با پیوند سلولی ملاحظه نشد؛ بنابراین بهبود کامل عملکرد نخاع، نیاز به درمان بسیار پیچیده‌تر و ترکیب روش‌های مختلف به جای تزریق از نوع تک‌سلولی دارد (۲۵). این یافته‌ها، حاکی از آنند که ADScها، پتانسیل زیادی برای ارتقای ترمیم عصب پیرامونی دارند. البته قابل ذکر است که ما تأثیرات کاشت ADScها را برای ترمیم عصب محیطی، تنها در شش هفته پس از پیوند مورد بررسی قرار دادیم که این یکی از محدودیت‌های این تحقیق است. تحقیقات چندجانبه و طولانی‌تری نیاز است تا بررسی شود که پیوند ADScها، تا چه مدت می‌توانند ترمیم عصب را پشتیبانی کنند و در چه زمانی این سلول‌ها، بهترین تأثیرات خود را نشان می‌دهند. تحقیق حاضر نشان داد که ADScها و NGF، ترمیم عصب محیطی را در موش ارتقا می‌بخشند.

نتیجه‌گیری

بر اساس مطالعه حاضر، می‌توان نتیجه گرفت که پیوند سلول، سبب ترمیم عصب سیاتیک له‌شده می‌شود؛ همچنین NGF، موجب تسریع در بهبود عصب می‌شود که با مطالعه الکتروفیزیولوژی به‌دست آمد و بهبود راه‌رفتن (SFI) نیز، آن را نشان داد.

تقدیر و تشکر

این مطالعه، با مساعدت مرکز علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... به انجام رسید که بدین‌وسیله تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع:

1- Jaquet JB. Median and Ulnar Nerve Injuries: Prognosis and Predictors for Clinical Outcome [dissertation]. [Rotterdam]: Erasmus University Rotterdam; 2004. 180p.

2. Smith Smith D, Tweed C, Fernyhough P, Glazner GW. Nuclear factor-kappaB activation in axons and Schwann cells in experimental sciatic nerve injury and its role in modulating axon regeneration: studies with etanercept. J Neuropathol Exp Neurol. 2009; 68(6): 691-700.

3- Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. Science. 1999; 284(5411): 143-7.

4- Cuevas P, Carceller F, Dujovny M, Garcia-Gómez I, Cuevas B, González-Corrochano R, et al. Peripheral nerve regeneration by bone marrow stromal cells. Neurol Res. 2002; 24(7): 634-8.

5- Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. Tissue Eng. 2001; 7(2): 211-28.

6- Lee TH, Yoon JG. Intracerebral transplantation of human adipose tissue stromal cells after middle cerebral artery occlusion in rats. J Clin Neurosci. 2008; 15(8): 907-12.

7- De Ugarte DA, Morizono K, Elbarbary A, Alfonso Z, Zuk PA, Zhu M, et al. Comparison of multi-lineage cells from human adipose tissue and bone marrow. Cells Tissues Organs. 2003; 174(3): 101-9.

8- Gimble JM, Katz AJ, Bunnell BA. Adipose-derived stem cells for regenerative medicine. Circ Res. 2007; 100(9): 1249-60.

9- Yoshimura H, Muneta T, Nimura A, Yokoyama A, Koga H, Sekiya I. Comparison of rat mesenchymal stem cells derived from bone marrow, synovium, periosteum, adipose tissue, and muscle. Cell Tissue Res. 2007; 327(3): 449-62.

10- Liao D, Gong P, Li X, Tan Z, Yuan Q. Co-culture with Schwann cells is an effective way for adipose-derived stem cells neural transdifferentiation. Arch Med Sci. 2010; 6(2): 145-51.

11- Rabinovsky ED, Draghia-Akli R. Insulin-like growth factor I plasmid therapy promotes in vivo angiogenesis. Mol Ther. 2004; 9(1): 46-55.

12- Thoenen H, Bandtlow C, Heumann R, Lindholm D, Meyer M, Rohrer H. Nerve growth factor: Cellular localization and regulation of synthesis. Cell Mol Neurobiol. 1988; 8(1): 35-40.

13- Ernfors P, Henschen A, Olson L, Persson H. Expression of nerve growth factor receptor mRNA is developmentally regulated and increased after axotomy in rat spinal cord motoneurons. Neuron. 1989; 2(6): 1605-13.

14- Bloom W, Fawcett DW. A Textbook of Histology. 12th ed. New York: Chapman & Hall; 1994.

15- Amoh Y, Li L, Campillo R, Kawahara K, Katsuoka K, Penman S, et al. Implanted hair follicle stem cells form Schwann cells that support repair of severed peripheral nerves. Proc Natl Acad Sci U S A. 2005; 102(49): 17734-8.

16- de Medinaceli L, Freed WJ, Wyatt RJ. An index of the functional condition of rat sciatic nerve based on measurements made from walking tracks. Exp Neurol. 1982; 77(3): 634-43.

17- Tohill M, Terenghi G. Stem-cell plasticity and therapy for injuries of the peripheral nervous system. Biotechnol Appl Biochem. 2004; 40(Pt 1): 17-24.

18- Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA, Huang JI, Mizuno H, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. Mol Biol Cell. 2002; 13(12): 4279-95.

19- Cai L, Johnstone BH, Cook TG, Tan J, Fishbein MC, Chen PS, et al. IFATS collection: Human adipose tissue-derived stem cells induce angiogenesis and nerve sprouting following myocardial infarction, in conjunction with potent preservation of cardiac function. Stem Cells. 2009; 27(1): 230-7.

20- Wei X, Du Z, Zhao L, Feng D, Wei G, He Y, et al. IFATS collection: The conditioned media of adipose stromal cells protect against hypoxia-ischemia-induced brain damage in neonatal rats. Stem Cells. 2009; 27(2): 478-88.

21- Bain JR, Mackinnon SE, Hunter DA. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. Plast Reconstr Surg. 1989; 83(1): 129-38.

22- di Summa PG, Kingham PJ, Raffoul W, Wiberg M, Terenghi G, Kalbermatten DF. Adipose-derived stem cells enhance peripheral nerve regeneration. J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2010; 63(9):1544-52.

23- Zhang HT, Cheng HY, Cai YQ, Ma X, Liu WP, Yan ZJ, et al. Comparison of adult neurospheres derived from different origins for treatment of rat spinal cord injury. Neurosci Lett. 2009; 458(3):116-121.

24- Ryu HH, Lim JH, Byeon YE, Park JR, Seo MS, Lee YW, et al. Functional recovery and neural differentiation after transplantation of allogeneic adipose-derived stem cells in a canine model of acute spinal cord injury. J Vet Sci. 2009; 10(4): 273-84.

25- Ohta Y, Takenaga M, Tokura Y, Hamaguchi A, Matsumoto T, Kano K, et al. Mature adipocyte-derived cells, dedifferentiated fat cells (DFAT), promoted functional recovery from spinal cord injury-induced motor dysfunction in rats. Cell Transplant. 2008; 17(8): 877-86.

Abstract *Original Article*

Effect of non-autologous adipose-derived stem cells transplantation and nerve growth factor on the repair of crushed sciatic nerve in rats

Azadeh Tajik[1], Mahnaz Azarnia[2], Gholamreza Kaka[3], Seyed Homayoon Sadraie[4], Amid Khatiby Aghda[5]

Background and Aim: Application of stem cells derived from adipose tissue is very easy. The present study evaluated the effect of transplantation of non-autolugus of adipose derived stem cell (ADSc) and nerve growth factor (NGF) in repairing of crushed sciatic nerve in rats by examining their behavior and electrophysiology.

Materials and Methods: Twenty-eight adult male rats were used in this study. The animals were randomly divided into four equal groups: (healthy rats), as control (sciatic nerve crushed rats), (sciatic nerve crushed rats treated with NGF), and (sciatic nerve crushed rats treated by means of transplantation of non-autolugue of ADSc).Then, the improvement of sensory function and sciatic nerve index (SFI) of the groups were assessed.

Results: Time of recovery of sensory parameters after two weeks treatment with NGF significantly decreased when compared to the control group ($P<0.01$), while the cell therapy group showed siqnificant improvement. At the end of the sixth week, mean of SFI in cell therapy and NGF groups increased compared to the control group but the differences were not significant. Mean NCV and AMP also showed a non-significant increase in the cell therapy group compared to the control group.

Conclusion: Transplantation of non-autologous of adipose-derived stem cells (ASDc) is an appropriate therapeutic approach in repairing of neurological injuries and NGF has a positive effect in crushed sciatic nerve regeneration.

Key Words: Adipose-derived stem cell (ADSc), Nerve growth factor (NGF), Nerve Repair

Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2014; 20 (4): 357-365.

Received: May 8, 2013 ***Accepted: December 30, 2013***

[1] *MSc Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran.*
[2] *Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran.*
[3] *Corresponding Author, Assisted Professor, Neuroscience Research Center of Baqiyatallah university of Medical Sciences, Tehran, Iran gh_kaka@yahoo.com*
[4] *Associate Professor, Neuroscience Research Center of Baqiyatallah university of Medical Sciences, Tehran, Iran.*
[5] *Assisted Professor, Department of Physical Medicine and Rehabilitation, Baqiyatallah university of Medical Sciences, Tehran, Iran.*